ПАРАЗИТОЛОГИЯ, II, 3, 1968

УДК 576.893

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О РАЗМНОЖЕНИИ TOXOPLASMA GONDII

Е. М. Хейсин, А. К. Шустров, Ю. М. Розанов и Б. Н. Кудрявцев

Лаборатория микроскопии Института цитологии АН СССР,
Кафедра общей биологии и паразитологии ВМОЛА им. С. М. Кирова, Ленинград

Было исследовано размножение токсоплазм штамма RH в первые дни после заражения белых мышей. Наблюдались стадии, напоминающие продольное деление или копуляцию изогамет. Однако достоверных данных о половом процессе у токсоплазм мы не имеем. Кроме продольного деления, наблюдается шизогония с образованием 4 трофозоитов. Применение метода флуоресцентной цитофотометрии для определения содержания ДНК в ядрах токсоплазм позволило выявить 3 группы ядер. 1-я группа с пресинтетическим количеством ДНК (4—8 усл. ед.), 2-я группа с двойным постсинтетическим количеством ДНК (10—16 усл. ед.) и 3-я группа с четверным количеством ДНК. Последняя группа малочисленна. Это могут быть ядра зиготы в постсинтетической фазе, что мало вероятно, или ядра шизонтов, готовые к двухкратному делению перед распадом шизонта на 4 трофозоита.

Жизненный цикл токсоплазм изучен более или менее полно, хотя еще имеются разногласия в трактовке отдельных стадий развития и способов размножения. Одни авторы считают, что токсоплазмы размножаются продольным делением (Chatton et Blanc, 1917; Wenyon, 1926; Brumpt, 1936; Засухин, 1964), другие предполагают, что имеет место внутреннее почкование, или эндодиогения (Goldman et al., 1958; Gavin et al., 1962; Senaud, 1967). Неясен вопрос о шизогонии. Одни отрицают ее (Засухин и другие, 1964, 1966), другие считают, что она имеет место (Nicolle et Manceaux, 1908; Splendore, 1909; Chatton et Blanc, 1917; Brumpt, 1936; Senaud, 1967). Некоторые авторы (Cross, 1947; Hoare, 1949; Piekarski, 1954; Chernin a. Weller, 1951) пишут о делении на 2, не уточняя, как это происходит. Что касается полового процесса, то большинство исследователей отрицают его существование в жизненном цикле токсоплазмы, и лишь немногие высказывают предположение о его наличии (Garnham, 1963).

Для уточнения некоторых сторон жизненного цикла токсоплазмы мы провели исследование паразита в острый период заболевания в первые дни после заражения экспериментального животного, применив некоторые новые методы исследования. Мы считали, что более детальное изучение ядра токсоплазм и в особенности содержания в нем нуклеиновых кислот поможет выяснить вопрос о наличии полового процесса и характере агамного размножения. В данной работе мы приводим сведения, полученные только с помощью световой и люминесцентной микроскопии. Для окончательного решения вопроса о формах размножения токсоплазмы необходимы еще наблюдения над живыми организмами, а также электронномикроскопические исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В наших исследованиях использованы токсоплазмы вирулентного штамма RH. Белые мыши весом 16—18 г заражались внутрибрюшинно перитонеальным эксудатом в разведении с физиологическим раствором

1 : 3 по 0.3 мл. Перитонеальный эксудат получали от мышей, убитых на 4-й день после очередного пассажа токсоплазм. В мазках из этого материала в каждом поле зрения микроскопа (об. 90×) обнаруживались паразиты. У мышей развивалась генерализованная инфекция. Мышей убивали через 24, 48, 72, 96, 120 и 144 часа. Для исследования брали мазки перитонеального эксудата, мазки и отпечатки срезов печени и легкого и пленчатые препараты брюшины, в частности сальника. Последний был использован нами потому, что, по данным ряда авторов (Cross a. Anigstein, 1949; Лидина и Засухин, 1967; Шустров, Хавкин и Святухина, 1968), токсоплазмы вирулентных штаммов интенсивно размножаются в клетках брюшины, особенно в мезотелии. Фиксация препаратов производилась этиловым или метиловым спиртом. Часть мазков окрашивалась по Гимза-Романовскому, часть по Фельгену (гидролиз 8 мин.) и часть флуоресцентным красителем аурамином ОО—SO_2. Мазки просматривались под микроскопом Цейсса или Рейхерта. Обработка препаратов флуоресцентным красителем — аурамином ОО проводилась по следующей методике: фиксированные мазки помещали на 8 мин. в 6 н. раствор соляной кислоты, затем споласкивали в дистиллированной воде и окрашивали в свежеприготовленном растворе красителя. Реактивный раствор красителя представляет 0.5%-й водный раствор аурамина ОО, отфильтрованный и насыщенный затем SO_2. Насыщение проводилось добавлением хлористого тионила ($SOCl_2$) в соотношении 0.1 мл на 45 мл раствора аурамина ОО. Окрашивание проходило в течение одного часа. Затем препараты прополаскивали в дистиллированной воде, проводили через сернистые воды по 3 мин. в каждой из трех порций и промывали 20 мин. в проточной водопроводной воде. После этого следовала проводка через спирты возрастающей крепости и заключение в глицерин. Фотометрирование интенсивности свечения ядер, окрашенных аурамином ОО—SO_2, производилось на установке, собранной в лаборатории микроскопии Института цитологии на основе микроскопа МЛД-1. Более подробное описание установки, а также методики окрашивания аурамином ОО—SO_2 и фотометрирования окрашенных ядер дано в работе Розанова и Кудрявцева (1967).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Через 24 часа после заражения мышей токсоплазмами в препаратах сальника, а через 48 час. и в перитонеальном эксудате обнаруживается много паразитов как в свободном состоянии, так и локализованных в макрофагах, лимфоцитах, гистиоцитах, в клетках мезотелия. В этих клетках можно найти много особей на той или иной стадии агамного размножения.

Особенно часто встречаются одноядерные токсоплазмы сигаровидной, грушевидной, полулунной и ланцетовидной формы. Их размеры колеблются от 5 до 8 мк в длину и от 1 до 2.5 мк в ширину. Это трофозоиты, которые образуются в так называемых «псевдоцистах». «Псевдоцисты» довольно сильно различаются по величине. Причин здесь может быть несколько. Во-первых, развитие «псевдоцист» может начаться либо после проникновения одного трофозоита токсоплазмы в клетку и последующего его размножения там, либо в результате размножения нескольких трофозоитов, одновременно или последовательно проникших в клетку. Во-вторых, неодинаковый размер клетки хозяина и ее функциональные особенности также могут быть причиной неодинаковой величины «псевдоцист».

В клетках нередко можно видеть последовательные этапы формирования «псевдоцист». Довольно часто встречаются особи веретеновидной формы с двумя ядрами, лежащими в середине тела поперек его продольной оси (рис. 1, *а*, *б*; 3, *а*). У некоторых двухъядерных особей заметна граница, проходящая медиально вдоль тела между ядрами, что свидетельствует о разделении таких особой на 2 половины (рис. 1, *в*; 3, *б*, *в*). Встречаются еще особи, соединенные только одним концом, тогда как противоположные концы несколько расходятся в стороны (рис. 1, *г*; 2, *б*; 3, *г*).

Кроме того, бывают видны 2 особи, лежащие рядом, и между ними обычно заметно разъединяющее их пространство (рис. 1, 2, 3). Создается впечатление, что все это либо разные стадии продольного деления, либо стадии копуляции гамет. За первое предположение говорят факты наличия особей, у которых ядра имеют вид гантелей, т. е. находятся в состоянии деления (рис. 3, *в*). Кроме того, у двухъядерных, еще не разделившихся, особей иногда можно видеть последующее деление ядер (рис. 2, 3, *в*, *г*). При этом дочерние ядра обычно располагаются вдоль продольной оси тела. Таким образом, каждая особь, образующая пару, имеет по 2 ядра. Обычно такие особи крупнее (4.5—7.5×1.5—2.0 мк), чем те, у которых не происходит деление ядер (4.5—5.0×1.5 мк). Эти картины свидетельствуют о том, что деление ядра начинается еще до того, как 2 особи, соединенные попарно, полностью разделятся.

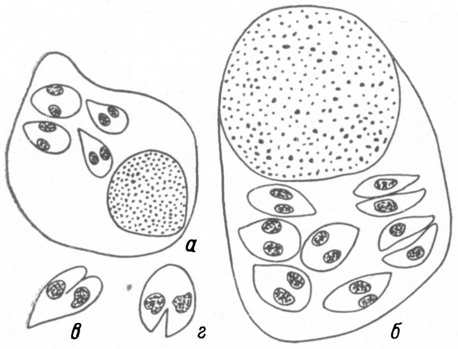

Рис. 1. Двухъядерные и парные трофозоиты на 3-й день после заражения. (Рис. апп. РА-6; микроскоп Цейсса; об. 90×1.3; ок. 10×. Общее увеличение рис. 2200 раз).

а — мелкие двухъядерные трофозоиты; *б* — крупные двухъядерные трофозоиты и две пары трофозоитов; *в*, *г* — разные стадии разъединения или объединения трофозоитов.

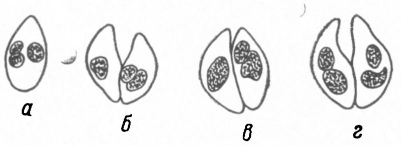

Рис. 2. Деление ядра у одиночных и парных трофозоитов.

а — трехъядерный трофозоит с одним разделившимся ядром; *б* — пара трофозоитов, в правом из них ядро разделилось; *в* — делящийся трофозоит; у правой особи два ядра; *г* — в разделившемся трофозоите по два ядра.

Кроме таких стадий, в лимфоцитах, макрофагах и гистиоцитах видны особи овальной, круглой или неправильной формы с одним или двумя ядрами (рис. 4, *а*—*г*). Их размеры варьируют от 6.0×5.0 до 6.0×6.5 мк. В клетках обычно встречается по нескольку таких особей. Неоднократно мы наблюдали у них стадии деления ядра. В таких овальных трофозоитах дочерние ядра располагаются ближе к полюсам, а не в центре, как у продольно делящихся особей. Такое расположение ядер определяет иной тип деления. Наряду с крупными двухъядерными формами в одной клетке нередко встречается до 10—14 двухъядерных форм меньших размеров (до 5.0 мк в длину). Ядра у них располагаются вдоль продольной оси тела (рис. 5, 6).

Кроме двухъядерных форм, можно видеть и четырехъядерные, сравнительно крупные особи. В цитоплазме не видно каких-либо границ между ядрами. Они имеют диаметр до 8 мк (рис. 4, *а*—*г*). Часто встречались переходные формы от двух- к четырехъядерным (рис. 4, *а*—*г*). Последние распадаются на 4 одноядерных трофозоита, что хорошо видно на рис. 3, *б* и 4, *г*.

В клетках перитонеального эксудата и в мезотелии нередко встречаются дегенерирующие трофозоиты. У них обычно хорошо видны только ядра, тогда как цитоплазма полностью растворяется и создается впечатление, что ядра паразитов разбросаны в цитоплазме клеток хозяина.

Ядра трофозоитов на всех стадиях развития дают положительную реакцию Фельгена. ДНК концентрируется на периферии ядра и образует нежную гранулярную сеть в его середине. Такая же структура ядра выявляется и при окраске флуоресцентным красителем — аурамином ОО. Более ярко флуоресцирует периферический слой по сравнению с центральной частью пузыревидного ядра. Нередко в периферическом слое заметна яркая флуоресценция нескольких гранул. Их число в разных ядрах варьирует от 3—4 до 12. Вероятно, эти гранулы соответствуют хромосомам,

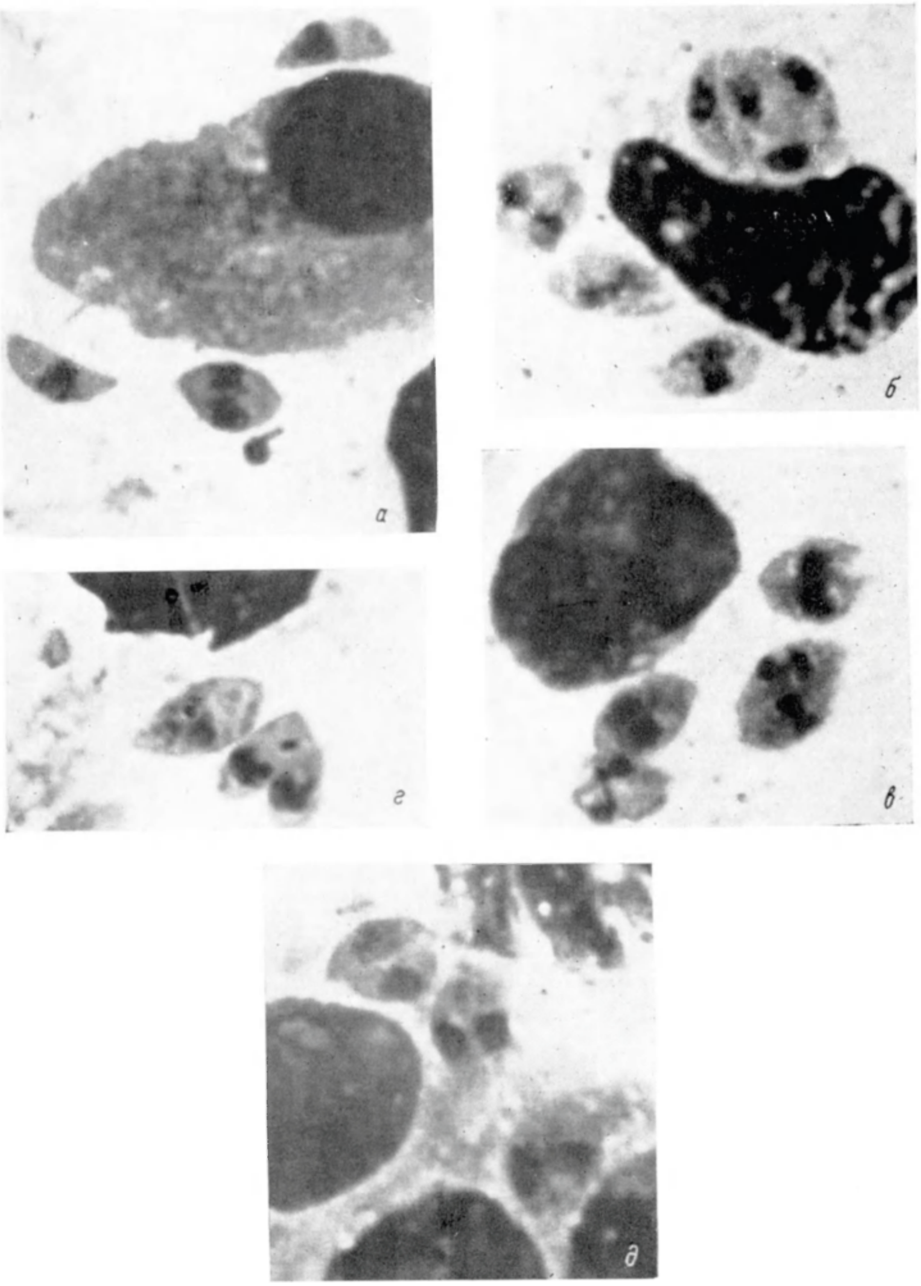

Рис. 3. Разные формы размножения токсоплазм. (Рис. 3, 4 сделаны с микроскопом Рейхерта-Цетопан; об. 100×1.3 и ок. 10×. Окраска но Гимза-Романовскому).

а — двухъядерная веретеновидная стадия; внизу виден одноядерный трофозоит; *б* — двухъядерные стадии (направо) и 4 трофозоита, образовавшиеся в результате распада четырехъядерного шизонта (налево); *в* — парные трофозоиты с делящимися ядрами; *г* — парные трофозоиты; *д* — стадия, которую можно принять за продольное деление.

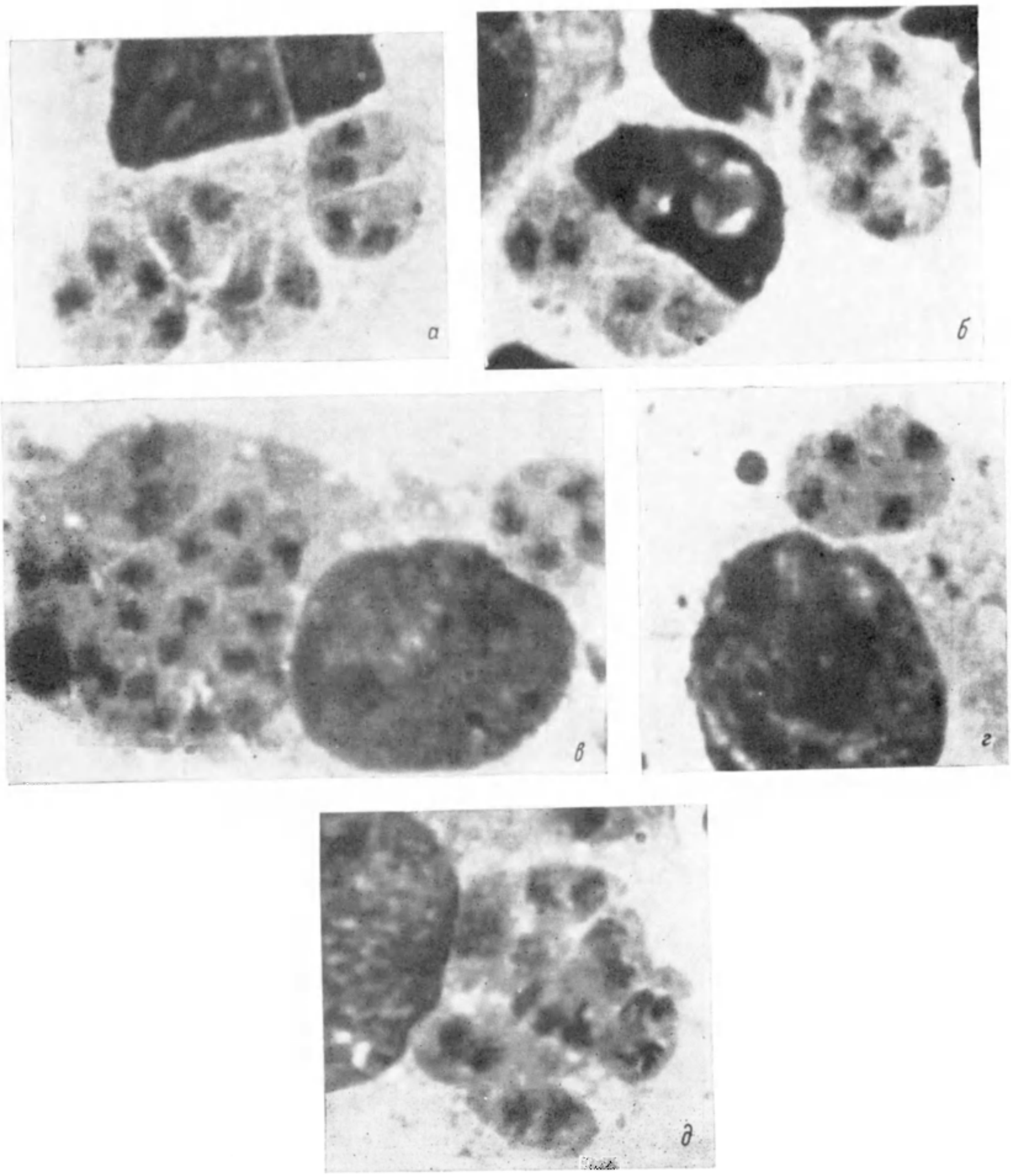

Рис. 4. Разные формы размножения токсоплазм.

а, *б* — двух- и четырехъядерные стадии размножения токсоплазм; *в* — «псевдоциста», в которой справа 9 двухъядерных трофозоитов и 2 одноядерных. Слева, образование четырехъядерного шизонта, *г* — четырехъядерный шизонт; *д* — деление ядер (стадия анафазы и телофазы) трофозоитов в «псевдоцисте».

хотя точной уверенности в этом нет. При окраске по Фельгену в ядре чаще выявляется только одна гранула, сильно окрашенная в красный цвет.

Ядра трофозоитов в период пролиферации (на 2—5-е дни после заражения) различаются по содержанию в них ДНК.

У первой группы трофозоитов (из печени, легких, мезотелия, клеток перитонеального эксудата) ядра имеют небольшую площадь — от 2 до 4 кв. мк, и они содержат наименьшее количество ДНК, соответствующее 4—8 относительным единицам. В этих ядрах бывают заметны 3—4 ярко светящиеся гранулы. Чаще всего встречаются ядра, содержащие 5—6 относительных единиц ДНК (рис. 7, *а*).

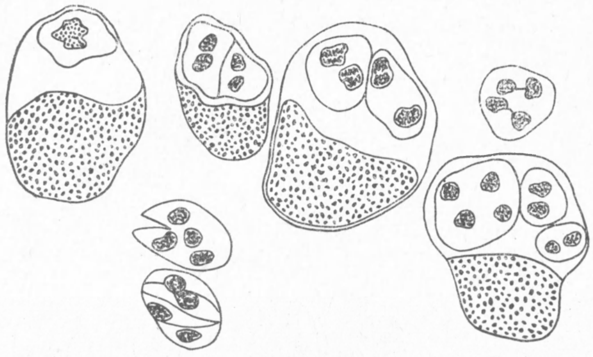

Рис. 5. Разные стадии образования четырехъядерного шизонта.

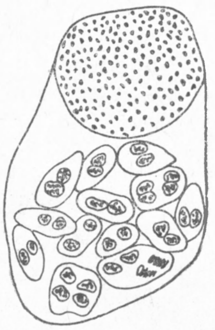

Рис. 6. Двухъядерные особи, образующие «псевдоцисту».

Вторая группа трофозоитов, найденных в то же время и в тех же тканях, имеет более крупные ядра. Их площадь варьирует от 4 до 8 кв. мк, и они содержат от 10 до 16 относительных единиц ДНК. Внутри клетки рядом могут лежать трофозоиты с крупными и мелкими ядрами (рис. 7, *б*, *г*). Крупные ядра часто находятся в состоянии деления. В этих ядрах бывает заметно 5—7 гранул, более сильно флуоресцирующих при окраске аурамином ОО (рис. 7, *б*, *г*). Трофозоиты второй группы встречаются достаточно часто, в особенности в мезотелии и сальнике.

В этих же тканях на 3—4-е сутки после заражения обнаруживаются трофозоиты третьей группы с ядрами, содержащими еще большее количество ДНК, чем в первых двух группах. Численность этих трофозоитов невелика (рис. 7, *д*), и размеры ядер равны примерно таковым второй группы. Содержание ДНК в таких ядрах превышает 16 условных единиц и достигает 38. В них можно подсчитать около 12 мелких, сильно флуоресцирующих гранул (рис. 7, *д*).

ОБСУЖДЕНИЕ

Описываемые формы размножения токсоплазм больше всего напоминают процесс деления на 2 и множественное деление.

Когда мы видим на препаратах трофозоиты с двумя ядрами или с одним крупным ядром, имеющим явную перетяжку, а также двух трофозоитов, тесно сближенных друг с другом вдоль продольной оси тела, или две особи, объединенные под некоторым углом только одним концом, то естественно все эти картины можно интерпретировать как стадии продольного деления.

Однако, как мы уже отметили выше, такие пары можно принять и за копулирующие изогаметы (Splendore, 1913; Garnham, 1963). Действительно, иногда в клетках встречаются крупные особи с большими ядрами, которые могут быть приняты за зиготы. Ядра этих особей содержат большее количество ДНК, чем ядра парных особей. Мы все же сомневаемся в том, что особи, лежащие попарно, представляют собой стадии копуляции. Косвенным доказательством того, что парные особи не являются копулирующими, служит нахождение трофозоитов с гантелевидными ядрами и с ядрами, начавшими деление в каждом партнере. В последнем случае трудно себе представить, что деление ядер осуществляется уже в гаметах. Таким образом, больше оснований говорить о продольном делении (Chatton et Blanc, 1917; Brumpt, 1936; Hoare, 1949). Акиншина (1964), Засухин и другие (1966) считают, что размножение происходит только путем продольного деления. Шатон и Бланк, Сплендор и другие отмечают, что наряду с такой формой деления существует еще и шизогония (Chatton et Blanc, 1917; Splendore, 1909). Венион (Wenyon, 1926) считает, что так называемые шизонты, описываемые различными авторами, представляют собой на самом деле многочисленные трофозоиты в одной клетке, находящиеся в стадии дегенерации. Границы между отдельными особями стираются, и создается впечатление, что ядра лежат в неразделенной цитоплазме. Засухин (1956, 1965, 1966), не приводя каких-либо новых фактических данных, отмечает, что шизогония — это артефакт. По нашим наблюдениям, у токсоплазм наблюдается деление на 2 (возможно продольное) и наряду с ним осуществляются и другие формы размножения, в частности шизогония. Такие же данные приводит Сено (Senaud, 1967) в своей последней работе, посвященной электронномикроскопическому исследованию токсоплазм и саркоцистис. Он отмечает у трофозоитов деление ядра на 4 части и последующее разделение цитоплазмы трофозоита одновременно на 4 особи. Другими словами, Сено описывает у токсоплазм процесс шизогонии.

Формирование четырехъядерных форм и распад их на 4 трофозоита можно интерпретировать только как шизогонию. Такие же стадии наблюдали раньше и другие исследователи (Brumpt, 1936). Этот процесс мы видели в острый период размножения токсоплазм в мезотелии сальника. Он, несомненно, протекает параллельно с делением на 2. Однако крупных шизонтов, наподобие таковых кокцидий, мы не наблюдали.

Четырехъядерные шизонты, по-видимому, могут развиваться из трофозоитов, образующихся при агамном размножении. С другой стороны, можно предположить, что последовательное двукратное деление ядер происходит у зиготы в метагамный период ее развития. Аналогичный процесс наблюдается, например, у некоторых жгутиконосцев (*Polytoma*, *Chlamidomonas*), обладающих изогамной копуляцией. В том и другом случае образование четырехъядерных шизонтов происходит путем множественного деления. У жгутиконосцев это сопровождается редукционным делением.

Никаких других форм агамного размножения, кроме вышеописанных, наблюдать не удалось. На наших препаратах мы не могли обнаружить стадии, напоминающие внутреннее почкование, или эндодиогению, описанную впервые Гольдманом с сотрудниками (Goldman et al., 1958). Эти авторы изучали эндодиогению на препаратах, обработанных серебром, тогда как мы исследовали препараты, окрашенные иными способами. Может быть, поэтому мы и не видели начальных стадий внутреннего почкования. Однако электронномикроскопические исследования, проведенные сначала Гэвин с сотрудниками (Gavin et al., 1962), а затем более детально Сено (Senaud, 1967), показали наличие внутренних почек в материнской особи. Эти авторы считают, что эндодиогения существует и что конечные этапы внутреннего почкования могут быть приняты за продольное деление, и, по-видимому, иногда невозможно определить на препаратах, возникла ли пара особей, объединенных задними концами, путем продольного деления или в результате эндодиогении. Гэвин, Ванко и Джекобс (Gavin, Wanco, Jacobs, 1962) предполагают, что в результате последовательных этапов эндодиогении могут образовываться розетки трофозоитов, встречающиеся особенно часто у токсоплазм в культуре ткани.

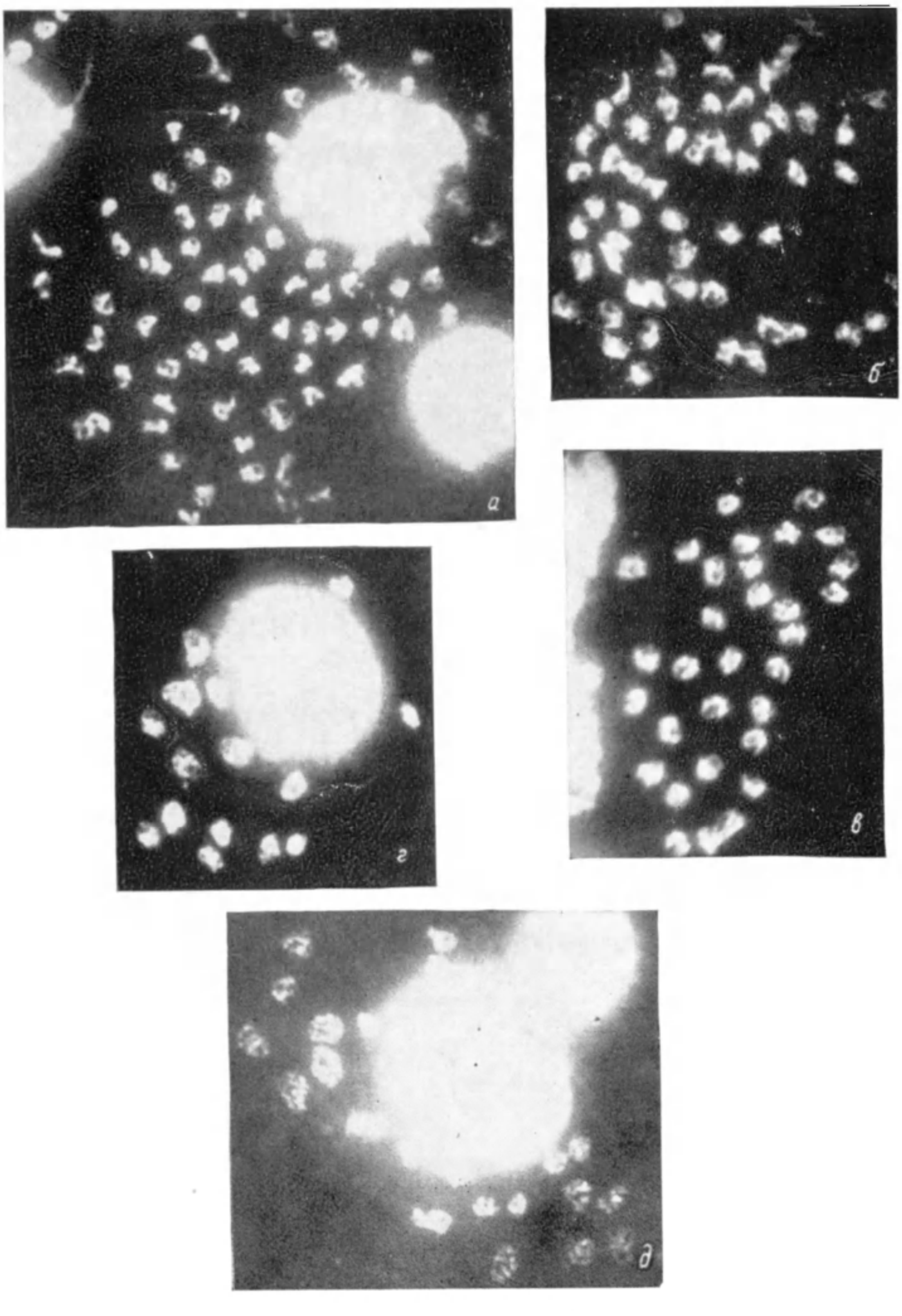

Рис. 7. Флуоресценция окрашенных аурамином 00 ядер трофозоитов (микрофотография).

а — ядра первой группы (пресинтетическая фаза); *б, в* — ядра трофозоитов второй группы (постсинтетическая фаза); *г, д* — ядра первой, второй и третьей (наиболее крупные) группы трофозоитов в пределах одной «псевдоцисты».

Среди трофозоитов, имеющих ланцетовидную форму, встречаются, как отмечено выше, крупные и мелкие формы (рис. 8). То же самое можно отметить и для парных особей, которые мы принимаем за продольно делящиеся организмы. В более крупных особях обычно более крупные ядра. Гарнем думает, что такие крупные трофозоиты представляют собой зиготы (Garnham, 1963). Мы, однако, не можем с полной убедительностью сказать, что видели копуляцию. Об этом процессе мы судим только по косвенным данным, в частности, на основании фотометрии ДНК в ядрах на разных стадиях развития токсоплазм.

Мы отметили, что наиболее часто у одиночных или парных трофозоитов, образующих «псевдоцисту», встречаются ядра с небольшим количеством ДНК (4—8 единиц). Это первая группа ядер. В период интенсивного размножения токсоплазм встречается много трофозоитов с ядрами, содержащими двойное количество ДНК по сравнению с первой группой. Такие ядра образуют вторую группу. Отсюда можно предположить, что наименьшее количество ДНК в ядрах соответствует пресинтетической фазе митотического цикла, тогда как ядра второй группы с двойным количеством ДНК характерны для постсинтетической фазы. На многих микрофотографиях можно видеть деление таких ядер на 2 более мелких ядра с меньшим количеством ДНК (рис. 7, *а*, *б*). Такое же двойное количество ДНК должны иметь и ядра зиготы. Однако поведение этих ядер будет иным, чем ядер трофозоитов. Если синкарион начнет делиться, то в результате синтеза в постсинтетической фазе ядра будут содержать удвоенное, по сравнению со второй группой, количество ДНК, что и наблюдается в ядрах третьей группы при фотометрировании препаратов, обработанных аурамином ОО. Следовательно, наличие таких ядер является косвенным доказательством существования полового процесса у токсоплазм. Можно представить себе гологамную копуляцию, когда трофозоиты без прогамного деления становятся гаметами, которые в дальнейшем копулируют между собой. Однако достоверных данных о копуляции мы не имеем, также как таких данных нет и у других авторов.

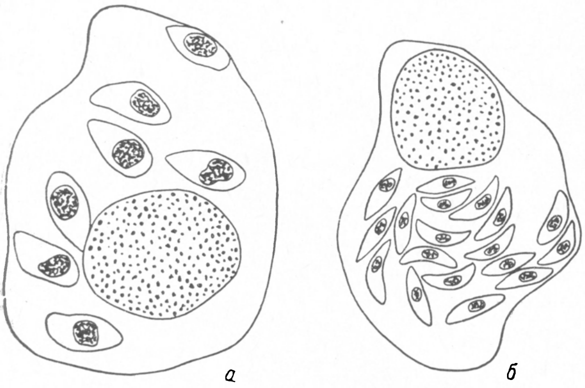

Рис. 8.

а — крупные одноядерные трофозоиты, которые могут быть приняты за зиготы; *б* — мелкие трофозоиты.

В то же время не без основания можно предположить, что ядра третьей группы возникают при множественном делении в момент подготовки ядра к последующему двухкратному делению (Senaud, 1967). В таком случае ядра перед завершением деления на 4 части в постсинтетической фазе будут иметь четверное количество ДНК (20—34 единицы).

Таким образом, вопрос о наличии полового процесса у токсоплазм еще не может быть решен положительно, так как прямых данных пока не имеется. Если даже у токсоплазм существует половой процесс по типу гологамной копуляции, что в общем мало вероятно, то его наличие все же не дает оснований включать эти организмы в класс споровиков, как это делают некоторые исследователи, обнаруживая сходство в ультраструктурах между токсоплазмами и споровиками (Senaud, 1967). Для споровиков характерна множественная мерогамная копуляция и строгое чередование агамного размножения с половым процессом.

Литература

Акиншина Г. Т. 1964. Изучение возбудителя токсоплазмоза в культуре тканей. Автореф. дисс. М.

Засухин Д. Н. 1956. Вопросы этиологии, эпидемиологии и борьбы с токсоплазмозом. В сб.: Токсоплазмоз. Медгиз, М. : 5—17.

Засухин Д. Н. 1965. Возбудитель токсоплазмоза и морфологически сходные организмы. Из кн.: Токсоплазмоз животных, ред. Галузо И. Г. Изд. «Наука», КазССР, Алма-Ата: 328—342.

Засухин Д. Н. и Васина С. Г. 1966. Паразитологические методы исследования на токсоплазмоз. В кн.: Диагностика токсоплазмоза. Изд. «Медицина», М. : 84—110.

Лидина М. А. и Засухин Д. Н. 1967. Размножение токсоплазм в клетках мезотелия брюшины. Бюлл. эксп. биол. и Мед., 1 : 61—63.

Розанов Ю. М. и Кудрявцев Б. Н. 1967. Метод флуоресцентной цитофотометрии для количественного определения ДНК. Цитология, 9 (3) : 361—368.

Шустров А. К., Хавкин Т. Н. и Святухина О. А. 1968. Развитие Toxoplasma gondii и связанные с этим реактивные процессы в брюшине белых мышей (исследование с применением флуоресцентных антител). Паразитология, 2 (1): 83—90.

Brumpt E. 1936. Précis de Parasitologie. 1. Paris.

Chatton E. et Blanc G. 1917. Notes et reflexions sur le Toxoplasme et la Toxoplasmose du gondii. Arch. Inst. Pasteur du Tunis, 10 : 1—40.

Chernin E. a. Weller T. H. 1954. Further observations on the growth of Toxoplasma gondii in roller tube tissue cultures. J. Parasitol., 40 (5) (Suppl.) : 21.

Cross J. B. 1947. A cytological study of Toxoplasma with special reference to its effect on the host's cell. J. Infect. Dies., 80 (3) : 278—296.

Cross J. B. a. Anigstein L. 1949. The inflammatory reaction to Toxoplasma in the omentum and peritoneal fluid of mouse. Am. J. Trop. Med., 29 (4): 473—481.

Garnham P. C. C. 1963. Toxoplasmosi. Arch. Ital. di Sci. Med. Trop. e Parasitol., 4 : 171—187.

Gavin M., Wanco T. a. Jacobs H. 1962. Electron microscopic studies of reproducing and interkinetic Toxoplasma. J. Protozool., 9, (2) : 222—234.

Goldman M., Carver R. K. a. Sulzer A. J. 1958. Reproduction of Toxoplasma gondii by internal budding. J. Parasitol., 44 (3) : 161—171.

Hoare C. 1949. Handbook of Medicine Protozoology. London.

Nicolle C. et Manceaux L. 1908. Sur une infection à corps de Leishman (on organismes voisins) du gondi. C. R. Acad. Sci., 147 : 763—766.

Piekarski G. 1954. Lehrbuch der Parasitologie. Berlin.

Senaud J. 1967. Contribution à l'étude des sarcosporidies et des toxoplasmes (Toxoplasmea). Protistologica III (2) : 170—232.

Splendore A. 1909. Sur un nouveau protozoaire de lapin. Bull. Soc. Path. Exotic, 2 : 642—665.

Splendore A. 1913. Des formes flagellus et des gamètes dans le Toxoplasma cuniculi. Bull. Soc. Parh. Exot., 6 : 318—328.

Wenyon C. M. 1926. Protozoology. London.

ON THE MULTIPLICATION OF TOXOPLASMA GONDII

E. M. Kheisin, A. K. Shustrov, Ju. M. Rozanov and B. N. Kudrjavtzev

SUMMARY

Some information is given on the multiplication of toxoplasms of RH strain. During 5—6 days after infection intensive multiplication of toxoplasms takes place in the cells of mesothelium, in macrophages, histiocytes and omentum. «Pseudocysts» are formed as a result of multiplication of one or more trophozoites having penetrated into the cell. The multiplication stages of toxoplasms resemble most of all the longitudinal fission. However trophozoites lying in pairs may be formed due to copulation of isogametes. The presence of dumb-bell-shaped nuclei in many trophozoites and dividing nuclei in paired individuals speaks, however, in favour of longitudinal fission. The possibility of hologamic copulation is confirmed only indirectly. In addition to small trophozoites large ones, which may be taken for zygotes, are occurred sometimes. The technique of fluorescent cytophotometry of nuclei stained with auramin 00—SO_2 has revealed three groups of trophozoites with nuclei containing different quantity of DNA: the 1st group with inconsiderable amount of DNA (4—8 conv. units); the 2nd group with double amount of DNA (10—16 conv. units). Indices of DNA in both groups may correspond either

to pre- and postsynthetic amount of DNA or to its haploid and diploid content. The first supposition is more probable

The 3^{d} group is very small and characterized by inconsiderable amount of DNA (16—38 conv. units). These are either dividing nuclei of zygotes in the postsynthetic phase, which is less probable, or nuclei of trophozoites ready to the consequent binary fission characteristic of schizogony. Thus in the postsynthetic phase, the nucleus will have a four-fold amount of DNA. Then, 4-nuclear schizonts are formed which divide into four trophozoites. Large polynuclear schizonts have not been detected. Stages of entodiogenia were not detected by the Romanovky-Gimsa method. Together with longitudinal fission there are binuclear individuals in which nuclei are located along the longitudinal axis of the body. No sexual processes seen to occur in toxoplasms.